

**FLEX**  
**Monoclonal Mouse**  
**Anti-Human**  
**Cytokeratin, High Molecular Weight**  
 Clone 34 $\beta$ E12  
**Ready-to-Use**  
 (Dako Autostainer/Autostainer Plus)

**Code IS051**

**Intended use**

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin, High Molecular Weight (HMW), Clone 34 $\beta$ E12 (1), Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody is useful for the identification of basal cells and squamous epithelium in various tissues. Positive results aid in the differentiation of benign prostatic glands from prostate adenocarcinoma and for detecting squamous differentiation in poorly differentiated tumors. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

**Summary and explanation**

Cytokeratins are intermediate filament cytoskeletal proteins essential to development and differentiation of epithelial cells. Approximately twenty different cytokeratins have been identified and are classified and numbered according to molecular weight and isoelectric points (2). In general, most low molecular weight cytokeratins (40–54 kDa) are distributed in non-squamous epithelium, Moll's catalog numbers 7-8 and/or 17-20 (3). High molecular weight cytokeratins (48–67 kDa) are found in the squamous epithelium, Moll's catalog numbers 1-6 and/or 9-16 (3).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures.

**Reagent provided**

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: 34 $\beta$ E12(1) Isotype: IgG<sub>1</sub>, kappa.

**Immunogen**

Solubilized immunogen keratin extracted from human stratum corneum (1).

**Specificity**

Anti-Cytokeratin, High Molecular Weight (Anti-CK HMW), Clone 34 $\beta$ E12 has been shown to react with the 66, 57, 51 and 49 kDa proteins in Western blotting corresponding to cytokeratins 1, 5, 10 and 14 of the Moll catalog (1, 2, 4).

**Precautions**

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

**Storage**

Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

**Quick guide**

Step		Comments
Fixation	Formalin	
Pre-treatment	EnVision FLEX™, High pH (Code K8004)	20 min HIER, 3-in-1 using PT Link and PT Link Rinse Station
Dilution Range	Ready-to-use	20 min incubation
Dilution buffer	Pre-diluted	
Negative Control	FLEX Negative Control, Mouse (Code IS750)	20 min incubation
Visualization	EnVision™ FLEX, High pH (Code K8010)	20 min incubation, 2x5 min DAB+ incubation
Counterstain	EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code K8018)	5 min incubation
Control Tissue	Tonsil	Cytoplasmic staining

Slides/Mounting	FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020)	Recommended for greater adherence. Permanent mounting required.
Instrumentation	Dako Autostainer/Autostainer Plus	Use instrument-specific vials (S3425)

*\*The user must always read the package insert for detailed instructions of the staining procedure and handling of the product.*

### Specimen preparation

**Paraffin sections:** The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

**Pre-treatment:** Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues with HIER using diluted EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8004). Deparaffinization, rehydration and epitope retrieval can be performed in Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to PT Link User Guide. The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove slide rack from PT tank and immediately dip slides in jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station, Code PT109) containing diluted room temperature EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007). Leave slides in Wash Buffer for 1–5 minutes.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended. After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

### Staining procedure

**Visualization:** The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010).

**Program:** Use the protocol given below. Reagents must be appropriately diluted before use. All steps should be performed at room temperature (20–25 °C).

1. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Code DM821) for 5 (±1) minutes
2. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1–5 minutes
3. Incubate tissue section with 200 µL Primary Antibody (Code IS051) for 20 (±1) minutes
4. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1–5 minutes
5. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX/HRP (Code DM822) for 20 (±1) minutes
6. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1–5 minutes
7. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 5 (±1) minutes (Auxiliary step)
8. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1–5 minutes
9. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Codes DM823 and DM827) for 5 (±1) minutes
10. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Codes DM823 and DM827) for 5 (±1) minutes
11. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1–5 minutes
12. Counterstain slide with EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code K8018) for 5 (±1) minutes
13. Rinse in deionized water for 1–5 minutes
14. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 5 (±1) minutes
15. Rinse in deionized water for 1–5 minutes
16. Mount slides with permanent mounting medium

Programming grid for recommended assay:



The Auxiliary step should be set to “rinse buffer” in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to “none”. This ascertains comparable wash times.

For details, please refer to the Operator’s Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

**Counterstaining:** The recommended counterstain is EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

**Controls:** Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include squamous epithelial cells and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in “Performance characteristics” in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

**Staining interpretation** The cellular staining pattern is cytoplasmic.

**Performance characteristics**

Normal tissues (5):

Tissue Type (# tested)	Positive Tissue Elements	Tissue Type (# tested)	Positive Tissue Elements
Adrenal (3)	0/3	Ovary (3)	3/3 Surface epithelium (80–100%), cytoplasmic
Bone marrow (3)	0/3	Pancreas (3)	3/3 Pancreatic duct epithelium (50–80%), cytoplasmic
Breast (2)	2/2 Gland and duct epithelium (80%), cytoplasmic	Parathyroid (3)	0/3
Cerebellum (3)	0/3	Pituitary (3)	0/3
Cerebrum (3)	0/3	Prostate (3)	3/3 Basal and ductal epithelium (90%), cytoplasmic
Cervix (2)	2/2 Surface squamous epithelium (100%), cytoplasmic	Salivary gland (3)	3/3 Excretory duct epithelium (100%), cytoplasmic
Colon (3)	3/3 Surface epithelium (10%), cytoplasmic	Skin (3)	3/3 Squamous epithelium (100%), cytoplasmic
Esophagus (3)	3/3 Squamous epithelium (100%), cytoplasmic		3/3 Sweat duct and gland epithelium (80–100%), cytoplasmic
Heart (3/3)	0/3		1/3 Sebaceous gland epithelium (100%) cytoplasmic
Kidney (3)	3/3 Renal tubule epithelium (10–30%), cytoplasmic	Small intestine (3)	3/3 Epithelium (20–50%), cytoplasmic
Liver (3)	3/3 Bile duct epithelium (50%), cytoplasmic	Spleen (3)	0/3
Lung (3)	3/3 Bronchial epithelium (10%), cytoplasmic	Stomach (3)	3/3 Gastric crypt gland epithelium (10–30%), cytoplasmic
	3/3 Alveolar epithelium (50%) cytoplasmic	Testis (3)	0/3

Mesothelial cells (2)	2/2 Mesothelium (100%), cytoplasmic	Thymus (3)	3/3 Squamous epithelium (100%), cytoplasmic
Muscle, cardiac (3)	0/3	Thyroid (3)	1/3 Follicular cells (5%), cytoplasmic
Muscle, skeletal (3)	0/3	Tonsil (3)	3/3 Squamous epithelium (100%), cytoplasmic
Nerve, peripheral (3)	0/3	Uterus (2)	2/2 Endometrial epithelium (5–80%), cytoplasmic

Abnormal tissues: Positive immunoreactivity with anti-CK HMW, 34 $\beta$ E12 antibody has been reported in squamous cell, ductal and transitional cell carcinomas including: squamous cell carcinoma of the skin, lung and nasopharynx; ductal carcinoma of the breast, pancreas, bile duct and salivary gland; transitional cell carcinomas of the bladder and nasopharynx and thymomas (6-11). Anti-CK HMW, 34 $\beta$ E12 has also been shown to positively identify epithelial mesotheliomas, but was unreactive with sarcomatoid or desmoplastic mesotheliomas (12). Variable positivity with anti-CK HMW 34 $\beta$ E12 has been found in adenocarcinomas of ovary, gastrointestinal tract and thyroid. Tumors reported to be largely unreactive with clone 34 $\beta$ E12 include adenomas of endocrine organs, carcinomas of liver (hepatocellular carcinoma), endometrium, kidney and neuroendocrine tumors (6, 7, 11). In prostate, clone 34 $\beta$ E12 positively labels the basal cells of benign lesions including atrophy, atypical adenomatous hyperplasia and post-sclerotic hyperplasia. The absence of staining of the basal layer with anti-CK HMW, 34 $\beta$ E12 is suggestive of the diagnosis of prostate cancer, but not diagnostic of malignancy and requires other morphologic data (3, 7, 13-15). Anti-CK HMW clone 34 $\beta$ E12 has been reported to label tumor cells in a subset acinar adenocarcinomas(3,15). Spurious immunostaining of astrocytomas has also been reported with clone 34 $\beta$ E12 (7,16).

## Français

### Intérêt

## Réf. IS051

Pour diagnostic in vitro.

L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin, High Molecular Weight (HMW), Clone 34βE12(1), Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à être utilisé en immunohistochimie avec les appareils Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps facilite l'identification des cellules basales et de l'épithélium squameux dans différents tissus. Des résultats positifs facilitent la différenciation entre les glandes prostatiques bénignes et l'adénocarcinome de la prostate et facilitent la détection d'une différenciation squameuse dans les tumeurs peu différenciées. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

### Résumé et explication

Les cytokératines sont des protéines de filament intermédiaire du cytosquelette, essentielles au développement et à la différenciation des cellules épithéliales. Environ vingt cytokératines différentes ont été identifiées. Elles sont classées et numérotées en fonction de leur poids moléculaire et de leur point isoélectrique (2). En général, la plupart des cytokératines de faible poids moléculaire (entre 40 et 54 kDa) sont réparties dans l'épithélium non squameux, et correspondent aux numéros 7 à 8 et/ou 17 à 20 de la classification de Moll (3). Les cytokératines de haut poids moléculaire (entre 48 et 67 kDa) se situent dans l'épithélium squameux, et correspondent aux numéros 1 à 6 et/ou 9 à 16 de la classification de Moll (3).

Se reporter aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC.

### Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : 34βE12(1) Isotype : IgG<sub>1</sub>, kappa.

### Immunogène

Kératine immunogène soluble extraite de la couche cornée de l'épiderme humain (1).

### Spécificité

Lors d'un Western blot, on a montré que l'anticorps Anti-Cytokeratin, High Molecular Weight (Anti-CK HMW), Clone 34βE12, réagissait avec les protéines de 66, 57, 51 et 49 kDa correspondant aux cytokératines 1, 5, 10 et 14 de la classification de Moll (1, 2, 4).

### Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

### Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

### Guide rapide

Étape		Commentaires
Fixation	Formol	
Prétraitement	EnVision™ FLEX, High pH (réf. K8004)	Démasquage des épitopes induit par la chaleur (HIER) de 20 minutes, procédure 3 en 1 à l'aide de l'appareil PT Link et de la station de rinçage du PT Link
Gamme de dilution	Prêt à l'emploi	Incubation de 20 minutes
Tampon de dilution	Prédilué	
Contrôle négatif	FLEX Negative Control, Mouse (réf. IS750)	Incubation de 20 minutes
Visualisation	EnVision™ FLEX, High pH (réf. K8010)	Incubation de 20 minutes, 2 incubations de 5 minutes avec le DAB+
Contre-coloration	EnVision™ FLEX Hematoxylin (réf. K8018)	Incubation de 5 minutes
Tissu de contrôle	Amygdale	Coloration cytoplasmique
Lames/Montage	FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020)	Recommandées pour une meilleure adhérence. Milieu de montage permanent requis

Appareillage	Dako Autostainer/Autostainer Plus	Utiliser les flacons spécifiques à l'appareil (réf. S3425)
--------------	-----------------------------------	--

*\*L'utilisateur doit toujours lire la notice pour obtenir des instructions détaillées sur la procédure de coloration et sur la manipulation du produit.*

### Préparation des échantillons

**Coupes en paraffine :** l'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissu fixées au formol et incluses en paraffine. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

**Prétraitement :** le prétraitement des coupes de tissu fixées au formol et incluses en paraffine par démasquage des épitopes induit par la chaleur (HIER) est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus par la méthode HIER, à l'aide de la solution diluée EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (réf. K8004). Le déparaffinage, la réhydratation et le démasquage des épitopes peuvent être réalisés dans l'appareil PT Link de Dako (réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se reporter au Manuel d'utilisation du PT Link. Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : température de préchauffage : 65 °C ; température et durée du démasquage des épitopes : 97 °C pendant 20 minutes (±1 minute) ; laisser refroidir jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir de lames de la cuve du PT Link et plonger immédiatement les lames dans une jarre/cuve (par ex. station de rinçage du PT Link, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (réf. K8007) dilué à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Les coupes de tissu ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique qui suit. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020). Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

### Procédure de coloration

**Visualisation :** le système de visualisation recommandé est le système EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010).

**Programme :** utiliser le protocole indiqué ci-après. Les réactifs doivent être dilués de la manière appropriée avant leur utilisation. Toutes les étapes doivent être réalisées à température ambiante (20 à 25 °C).

1. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de réactif EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (réf. DM821) pendant 5 minutes (±1 minute).
2. Rincer dans le tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 1 à 5 minutes.
3. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL d'anticorps primaire (réf. IS051) pendant 20 minutes (±1 minute).
4. Rincer dans le tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 1 à 5 minutes.
5. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de produit EnVision™ FLEX/HRP (réf. DM822) pendant 20 minutes (±1 minute).
6. Rincer dans le tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 1 à 5 minutes.
7. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 5 minutes (±1 minute) (étape dite « Auxiliary »).
8. Rincer dans le tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 1 à 5 minutes.
9. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de solution EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (réf. DM823 et DM827) pendant 5 minutes (±1 minute).
10. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de solution EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (réf. DM823 et DM827) pendant 5 minutes (±1 minute).
11. Rincer dans le tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 1 à 5 minutes.
12. Procéder à une contre-coloration de la lame avec le produit EnVision™ FLEX Hematoxylin (réf. K8018) pendant 5 minutes (±1 minute).
13. Rincer dans de l'eau déionisée pendant 1 à 5 minutes.
14. Incuber la coupe de tissu avec 200 µL de tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (réf. K8007) pendant 5 minutes (±1 minute).
15. Rincer dans de l'eau déionisée pendant 1 à 5 minutes.
16. Monter les lames avec un milieu de montage permanent.

Grille de programmation pour le dosage recommandé :

Programming Grid													
Slides	File	Edit lists			Copy			Auto			Neg.Cl	Pos.Cl	
Slide #	Dispense	End.Enz. Block	Pretreatment	Primary Antibody	Labelled Polymer	Auxiliary	Substrate	Substrate	Auxiliary	Auxiliary			
1	2 0 0 µl	FLEX PBR 5'	TRS High (Manual Step) 200 µl	CKhvw 20'	EnVision F 20'	TBST 5'	DAB+ 5'	DAB+ 5'	Hematox 5'	TBST 5'			
2	2 0 0 µl	FLEX PBR 5'	TRS High (Manual Step) 200 µl	UNC Ms 20'	EnVision F 20'	TBST 5'	DAB+ 5'	DAB+ 5'	Hematox 5'	TBST 5'			
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													

Program: \_\_\_\_\_

Slide Info    Protocol Template    Next    Print    Exit    Help

V4.4.1 IHC 6/08/12 3:20 PM a[\*] Dako DC3400-7355-03

L'étape dite « Auxiliary » doit être réglée sur « inise buffer » lors des cycles de coloration de 10 lames ou moins. Pour les cycles de coloration de plus de 10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Pour plus de détails, se reporter au Manuel d'utilisation spécifique à l'appareil. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'appareil Dako Autostainer, contacter l'assistance technique de Dako.

**Contre-coloration :** il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide du produit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

**Contrôles :** des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps et en suivant le même protocole que les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre des cellules épithéliales squameuses et les cellules/structures doivent présenter les schémas de réaction décrits pour ces tissus dans la section « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le produit FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. IS750).

**Interprétation de la coloration**

Le schéma de coloration cellulaire est cytoplasmique.

**Caractéristiques de performance**

Tissus sains (5) :

Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires positifs	Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires positifs
Surrénale (3)	0/3	Ovaire (3)	3/3 Épithélium de surface (80–100 %), cytoplasmique
Moelle osseuse (3)	0/3	Pancréas (3)	3/3 Épithélium du canal pancréatique (50–80 %), cytoplasmique
Sein (2)	2/2 Épithélium glandulaire et canalaire (80 %), cytoplasmique	Parathyroïde (3)	0/3
Cervelet (3)	0/3	Pituitaire (3)	0/3
Cerveau (3)	0/3	Prostate (3)	3/3 Épithélium basal et canalaire (90 %), cytoplasmique
Col de l'utérus (2)	2/2 Épithélium squameux de surface (100 %), cytoplasmique	Glande salivaire (3)	3/3 Épithélium des canaux excréteurs (100 %), cytoplasmique
Côlon (3)	3/3 Épithélium de surface (10 %), cytoplasmique	Peau (3)	3/3 Épithélium squameux (100 %), cytoplasmique
Oesophage (3)	3/3 Épithélium squameux (100 %), cytoplasmique		3/3 Épithélium du canal et des glandes sudoripares (80–100 %), cytoplasmique
Cœur (3/3)	0/3		1/3 Épithélium des glandes sébacées (100 %), cytoplasmique
Rein (3)	3/3 Épithélium des tubules néaux (10–30 %), cytoplasmique	Intestin grêle (3)	3/3 Épithélium (20–50 %), cytoplasmique
Foie (3)	3/3 Épithélium du canal biliaire (50 %), cytoplasmique	Rate (3)	0/3

Poumon (3)	3/3 Épithélium bronchique (10 %), cytoplasmique	Estomac (3)	3/3 Épithélium des glandes des cryptes gastriques (10–30 %), cytoplasmique
	3/3 Épithélium alvéolaire (50 %), cytoplasmique	Testicule (3)	0/3
Cellules mésothéliales (2)	2/2 Mésothélium (100 %), cytoplasmique	Thymus (3)	3/3 Épithélium squameux (100 %), cytoplasmique
Muscle, cardiaque (3)	0/3	Thyroïde (3)	1/3 Cellules folliculaires (5 %), cytoplasmique
Muscle, squelettique (3)	0/3	Amygdale (3)	3/3 Épithélium squameux (100 %), cytoplasmique
Nerf périphérique (3)	0/3	Utérus (2)	2/2 Épithélium de l'endomètre (5–80 %), cytoplasmique

**Tissus tumoraux :** une immunoréactivité positive à l'anticorps Anti-CK HMW, 34βE12, a été signalée pour les carcinomes épidermoïdes, canaux et transitionnels, notamment : le carcinome épidermoïde de la peau, du poumon et du nasopharynx ; le carcinome intracanaux du sein, du pancréas, du canal biliaire et de la glande salivaire ; le carcinome transitionnel de la vessie et du nasopharynx et les thymomes (6-11). Il a également été montré que l'anticorps Anti-CK HMW, 34βE12, identifie de façon positive les mésothéliomes épithéliaux mais il ne réagissait pas avec les mésothéliomes sarcomatoïdes ou desmoplastiques (12). Une positivité variable à l'anticorps Anti-CK HMW 34βE12 a été observée pour les adénocarcinomes de l'ovaire et du tractus gastro-intestinal ainsi que de la thyroïde. Les tumeurs observées comme largement non réactives au clone 34βE12 comprennent les adénomes d'organes endocriniens, les carcinomes du foie (carcinome hépatocellulaire), les tumeurs de l'endomètre, du rein et neuroendocrines (6, 7, 11). Dans la prostate, le clone 34βE12 marque positivement les cellules basales de lésions bénignes telles que l'atrophie, l'hyperplasie adénomateuse atypique et l'hyperplasie post-sclérotique. L'absence de coloration de la couche basale avec l'anticorps Anti-CK HMW, 34βE12, suggère un diagnostic de cancer de la prostate mais non un diagnostic de malignité et nécessite d'autres données morphologiques (3, 7, 13-15). Il a été observé que l'anticorps Anti-CK HMW clone 34βE12 marque les cellules tumorales dans un sous-ensemble d'adénocarcinomes acinaux (3, 15). Une coloration immunologique fautive des astrocytomes a également été signalée avec le clone 34βE12 (7, 16).



## Deutsch

## Code-Nr. IS051

### Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin, High Molecular Weight (HMW), Klon 34βE12 (1), gebrauchsfertig (Dako Autostainer/Autostainer Plus), ist für die Verwendung in der Immunhistochemie zusammen mit Dako Autostainer/Autostainer Plus Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zum Nachweis von Basalzellen und Plattenepithelzellen in verschiedenen Geweben. Positive Ergebnisse helfen bei der Unterscheidung gutartigen Prostatagewebes von Prostata-Adenokarzinomen und beim Nachweis von Plattenepithelzellen bei schlecht differenzierten Tumoren. Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

### Zusammenfassung und Erklärung

Zytokeratine sind Zellgerüstproteine des intermediären Filaments, die wesentlich für die Entwicklung und Differenzierung von Epithelzellen sind. Bisher sind etwa zwanzig verschiedene Zytokeratine identifiziert und nach ihrem Molekulargewicht und ihrem isoelektrischen Punkt klassifiziert und nummeriert worden (2). Generell gilt, dass die meisten Zytokeratine mit niedrigem Molekulargewicht (40–54 kDa) im Nicht-Plattenepithel verteilt sind. Sie tragen die Katalognummern 7-8 und/oder 17-20 nach Moll (3). Hochmolekulare Zytokeratine (48–67 kDa) kommen im Plattenepithel vor und haben die Katalognummern 1-6 und/oder 9-16 nach Moll (3).

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder die Anweisungen des Detektionssystems von IHC-Verfahren.

### Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Klon: 34βE12(1) Isotyp: IgG<sub>1</sub>, Kappa.

### Immunogen

Aus der humanen Hornschicht extrahiertes, gelöstes immunogenes Keratin (1).

### Spezifität

Anti-Cytokeratin, High Molecular Weight (Anti-CK HMW), Klon 34βE12 reagiert nachweislich mit den Proteinen mit Molekulargewichten von 66, 57, 51 und 49 kDa beim Western Blotting, die den Zytokeratinen 1, 5, 10 und 14 des Moll'schen Katalogs entsprechen (1,2,4).

### Vorsichtsmaßnahmen

1. Für Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Metallazid in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

### Lagerung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben durchgeführt werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

### Kurzanleitung

Schritt		Anmerkungen
Fixierung	Formalin	
Vorbehandlung	EnVision™ FLEX, High pH (Code-Nr. K8004)	20 Min. HIER, 3-in-1 mit PT Link und PT Link Rinse Station
Verdünnungsbereich	Gebrauchsfertig	20 Min. Inkubation
Verdünnungspuffer	Vorverdünnt	
Negativkontrolle	FLEX Negative Control, Mouse (Code-Nr. IS750)	20 Min. Inkubation
Visualisierung	EnVision™ FLEX, High pH (Code-Nr. K8010)	20 Min. Inkubation, 2 x 5 Min. DAB+ Inkubation
Gegenfärbung	EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code-Nr. K8018)	5 Min. Inkubation
Kontrollgewebe	Mandeln	Zytoplasmatische Färbung
Objektträger/ Fixierung	FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020)	Wird zur besseren Haftung empfohlen. Permanente Fixierung erforderlich.
Geräte	Dako Autostainer/Autostainer Plus	Gerätespezifische Fläschchen verwenden (Code-Nr. S3425)

*\*Der Anwender muss stets die Packungsbeilage lesen, um sich über die detaillierten Anweisungen für das Färbeverfahren und die Handhabung des Produkts zu informieren.*

## Probenvorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Vorbehandlung: Es ist eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit HIER unter Verwendung von verdünnter EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8004) erzielt werden. Entparaffinierung, Rehydrierung und Epitopdemaskierung können im Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) vorgenommen werden. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Für PT Link sollten die folgenden Parameter verwendet werden: Vorwärmtemperatur: 65 °C; Temperatur und Zeit für Epitopdemaskierung: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Das Objektträgergestell mit den Objektträgern aus dem PT-Behälter herausnehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter (z. B. PT Link Rinse Station, Code-Nr. PT109) mit verdünntem, auf Raumtemperatur gebrachtem EnVision™ FLEX Wash Buffer (20X) (Code-Nr. K8007) eintauchen. Die Objektträger für 1–5 Minuten im Wash Buffer belassen.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Fixiermittels fixiert werden.

## Färbeverfahren

Visualisierung: Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010).

Programm: Das unten aufgeführte Protokoll verwenden. Reagenzien müssen vor dem Einsatz entsprechend verdünnt werden. Alle Schritte bei Raumtemperatur (20–25 °C) durchführen.

1. Gewebeschnitte mit 200 µL EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Code-Nr. DM821) für 5 (±1) Minuten inkubieren.
2. 1–5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) spülen.
3. Gewebeschnitt 20 (±1) Minuten mit 200 µL Primärantikörper (Code-Nr. IS051) inkubieren.
4. 1–5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) spülen.
5. Gewebeschnitte 20 (±1) Minuten mit 200 µL EnVision™ FLEX/HRP (Code-Nr. DM822) inkubieren.
6. 1–5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) spülen.
7. Gewebeschnitte 5 (±1) Minuten („Zusatz“-Schritt) mit 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) inkubieren.
8. 1–5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) spülen.
9. Gewebeschnitte 5 (±1) Minuten mit 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Code-Nr. DM823 und DM827) inkubieren.
10. Gewebeschnitte 5 (±1) Minuten mit 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Code-Nr. DM823 und DM827) inkubieren.
11. 1–5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) spülen.
12. Objektträger 5 (±1) Minuten mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code-Nr. K8018) gegenfärben.
13. 1–5 Minuten mit entionisiertem Wasser spülen.
14. Gewebeschnitte 5 (±1) Minuten mit 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) inkubieren.
15. 1–5 Minuten mit entionisiertem Wasser spülen.
16. Objektträger mit einem permanenten Fixiermittel fixieren.

Programmerraster für empfohlenes Assay:

Programming Grid													
Slides	File	Edit lists			Copy			Auto			Neg.Cl	Pos.Cl	
Slide #	Dispense	End.Enz. Block	Pretreatment	Primary Antibody	Labelled Polymer	Auxiliary	Substrate	Substrate	Auxiliary	Auxiliary			
1	2 0 0 µl	FLEX PBR 5'	TRS High (Manual Step) 200 µl	CKhw 20'	EnVision F 20'	TBST 5'	DAB+ 5'	DAB+ 5'	Hematox 5'	TBST 5'			
2	2 0 0 µl	FLEX PBR 5'	TRS High (Manual Step) 200 µl	UNC Ms 20'	EnVision F 20'	TBST 5'	DAB+ 5'	DAB+ 5'	Hematox 5'	TBST 5'			
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													

Program: \_\_\_\_\_

Slide Info    Protocol Template    Next    Print    Exit    Help

V4.4.1 IHC 6/08/12 3:20 PM a[\*] Dako DC3400-7355-03

Bei Färbedurchläufen mit ≤10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „rinse buffer“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den Zusatz-Schritt auf „Keine“ einstellen. Dies gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Gegenfärbung: Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hämatoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Kontrollen: Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe sollte Plattenepithelzellen enthalten und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

**Auswertung der Färbung** Das zelluläre Färbemuster ist zytoplasmatisch.

**Leistungseigenschaften** Gesunde Gewebe (5):

Gewebetyp (Anz. getestet)	Positive Gewebeelemente	Gewebetyp (Anz. getestet)	Positive Gewebeelemente
Nebenniere (3)	0/3	Ovarium (3)	3/3 Oberflächenepithel (80–100 %), zytoplasmatisch
Knochenmark (3)	0/3	Pankreas (3)	3/3 Pankreasgangepithel (50–80 %), zytoplasmatisch
Mamma (2)	2/2 Drüsen- und Gangepithel (80 %), zytoplasmatisch	Parathyroidea (3)	0/3
Zerebellum (3)	0/3	Hypophyse (3)	0/3
Zerebrum (3)	0/3	Prostata (3)	3/3 Basal- und Gangepithel (90 %), zytoplasmatisch
Zervix (2)	2/2 Oberflächen-Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch	Speicheldrüse (3)	3/3 Exkretionsgangepithel (100 %), zytoplasmatisch
Kolon (3)	3/3 Oberflächenepithel (10 %), zytoplasmatisch	Haut (3)	3/3 Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch
Ösophagus (3)	3/3 Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch		3/3 Schweißdrüsengang- und Drüsenepithel (80–100 %), zytoplasmatisch
Herz (3/3)	0/3		1/3 Talgdrüsenepithel (100 %), zytoplasmatisch
Niere (3)	3/3 Nierentubulusepithel (10–30 %), zytoplasmatisch	Dünndarm (3)	3/3 Epithel (20–50 %), zytoplasmatisch
Leber (3)	3/3 Gallengangepithel (50 %), zytoplasmatisch	Milz (3)	0/3

Lunge (3)	3/3 Bronchialepithel (10 %), zytoplasmatisch	Magen (3)	3/3 Gastrische Einbuchtungsepithel (10–30 %), zytoplasmatisch
	3/3 Alveolarepithel (50 %), zytoplasmatisch	Testes (3)	0/3
Mesothelzellen (2)	2/2 Mesothel (100 %), zytoplasmatisch	Thymus (3)	3/3 Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch
Herzmuskel (3)	0/3	Thyroida (3)	1/3 Follikelzellen (5 %), zytoplasmatisch
Skelettmuskulatur (3)	0/3	Mandel (3)	3/3 Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch
Nerv, peripher (3)	0/3	Uterus (2)	2/2 Endometriume epithel (5–80 %), zytoplasmatisch

**Pathologische Gewebe:** Positive Immunreaktivität mit Anti-CK HMW, 34βE12 Antikörper wird für Plattenepithel- und Duktal- und Übergangsepithelkarzinome beschrieben, wie beispielsweise: Plattenepithelkarzinom von Haut, Lunge und Nasopharynx; Duktuskarzinom von Brust, Pankreas, Gallengang und Speicheldrüsen; Übergangsepithelkarzinom von Blase und Nasopharynx sowie Thymome (6-11). Anti-CK HMW, 34βE12 identifiziert auch positiv epitheliale Mesotheliome, reagiert aber nicht mit sarkomatoiden oder desmoplastischen Mesotheliomen (12). Variable Positivitätsgrade mit Anti-CK HMW 34βE12 wurden in Adenokarzinomen von Eierstock, Gastrointestinaltrakt und Schilddrüse nachgewiesen. Berichte über größtenteils nicht reaktive Tumore mit Klon 34βE12 beinhalten Adenome der endokrinen Organe, Karzinome der Leber (hepatozelluläre Karzinome), Endometrium, Niere und neuroendokrine Tumore (6, 7, 11). Bei Prostata markiert Klon 34βE12 die Basalzellen von gutartigen Läsionen, einschließlich Atrophie, atypischer adenomatöser Hyperplasie und post-sklerotischer Hyperplasie, positiv. Das Fehlen einer Färbung der Basalschicht mit Anti-CK HMW, 34βE12 gilt als deutliches Anzeichen für die Diagnose von Prostatakrebs, jedoch nicht für die Diagnose einer Malignität, und erfordert weitere morphologische Daten (3, 7, 13-15). Anti-CK HMW Klon 34βE12 markiert Berichten zufolge Tumorzellen bei einer Untergruppe azinöser Adenokarzinome (3,15). Über eine scheinbare Immunfärbung von Astrozytomen wurde bei Klon 34βE12 (7,16) ebenfalls berichtet.

**References  
Bibliographie  
Literaturangaben**

- Gown AM, Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: Unique and cross-reacting antibodies. J Cell Biol 1982; 95:414-24.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982; 31:11-24.
- Miettinen M. Keratin immunohistochemistry: update of applications and pitfalls. Pathol Ann 1993; 28:113-43.
- Gown AM, Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins II. Distribution of filaments in normal human tissues. Amer J Pathol 1984; 114:309-21.
- IR051(IHC003-D09346).
- Gown AM, Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. Am J Clin Pathol.1985 Oct;84(4):413-24.
- Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications. Dabbs, David J. 3rd ed. Philadelphia, PA : Saunders /Elsevier, 2010.
- Hurlimann J, Gardiol D. Immunohistochemistry in the differential diagnosis of liver carcinomas. Amer J Surg Pathol 1991; 15:280-8.
- Dairkee SH, Puett L, Hackett AJ. Expression of basal and luminal epithelium-specific keratins in normal, benign and malignant breast tissue. J Nat Can Inst 1988; 80:691-5.
- Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. Mod Pathol 2010;23(1):123-33.
- Gown AM, Vogel AM. Anti-intermediate filament monoclonal antibodies; tissue-specific tools in tumor diagnosis. Surv Synth Pathol Res. 1984;3:369-385.
- Bolen JW, Hammar SP, McNutt MA. Reactive and neoplastic serosal tissue: a light-microscopic, ultrastructural, and immunocytochemical study. Amer J Surg Pathol 1986; 10:34-47.
- Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody—A study of 301 consecutive needle biopsies. Mod Pathol 1997; 10:93A.
- O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virch Arch Pathol Anat 1990; 417:191-6.
- Brimo F, Epstein JI. Immunohistochemical pitfalls in prostate pathology. Hum Pathol 2012;43:313-24.
- Bacchi CA, Zarbo RJ, Jiang JJ, Gown AM. Do glioma cells express cytokeratin? Appl Immunohistochem 1995; 3:45-53.

Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 Dako North America, Inc. 6392 Via Real Carpinteria, California 93013 USA  Tel 805 566 6655 Fax 805 566 6688 Technical Support 800 424 0021 Customer Service 800 235 5763	 Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark  Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595  www.dako.com
Manufacturer Fabricant Hersteller	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	Contains sufficient for <N> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für „n“ Ansätze		
Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		

PT0020/ Rev C

Edition 07/12

(115639-002)

307118EFG\_002\_IS051/2012.07 12/12